

## 8. 免疫部

### 部長 小林 和夫

#### 概要

免疫部は感染症、すなわち、病原体—宿主関係を宿主応答の視点から感染症の制圧研究を推進している。「Translational medical research (橋渡し医学研究)を推進することにより、研究室で得られた研究成果を医療や社会に還元し、健康増進や感染症によるヒトの健康被害の減少」を究極の目標として、部員一同、邁進している。また、国立感染症研究所において、免疫部は感染免疫の学問領域から所内横断的協力体制に、加えて、人材育成や国際化に対応するため、研修や国際協力にも参加している。

免疫部では、ウイルス、細菌や原虫・寄生虫など、多種多様な病原体感染症に関する研究や免疫機能に関する研究を実施した。また、品質管理に関する業務、国際協力関係業務、研修業務や共同利用機器管理にも寄与した。

免疫部で実施された研究・業務の概要は以下のとおりである。

#### 調査・研究

##### I. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の増殖制御と病態に関する研究
2. インフルエンザに関する研究
3. C型肝炎ウイルス (HCV) 感染に関する研究
4. A型肝炎ウイルス (HAV) 特異的抗体産生 B 細胞の動態解析
5. ワクチンに関する基礎的研究

##### II. 細菌感染症

1. 抗酸菌感染症に関する研究
2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究
3. 類鼻疽の宿主防御に関する研究

##### III. 原虫・寄生虫感染症

1. 内臓リーシュマニア症における慢性感染機序に関する研究
2. マンソン住血吸虫感染マウス血清の抗体測定実験

##### IV. 免疫機能に関する研究

1. プレ B 細胞受容体の機能に関する研究
2. 抗体産生 B 細胞分化における BILL カドヘリンの機能に関する研究
3. 腸管上皮細胞に発現するカドヘリン・ファミリー分子と病原体の細胞侵入機構に関する研究

#### 品質管理に関する業務

#### 国際協力関係業務

#### 研修業務

#### 共同利用機器管理

#### 人事

平成 23 (2012) 年 3 月 31 日に免疫部第四室研究員 平山中己 (感染研在職: 20 年以上) が定年退職した。

#### 業績

##### 調査・研究

##### I. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の増殖制御と病態に関する研究

(1) HIV-1 増殖制御のためのレンチベクターの開発

Signaling lymphocyte activation molecule (SLAM) 陽性細胞に選択的に感染する野生型麻疹ウイルス envelope

(F タンパクと H タンパクの融合欠損型) 被覆レンチウイルス (MV Lenti) を作製し、未刺激 T 細胞においては、汎用されている vesicular stomatitis virus (VSV) Lenti と比較して遺伝子導入効率が良いことを確認した。そこで、siRNA により HIV 増殖抑制活性を有する MV Lenti shNef366 を作製したところ、SLAM 陽性の成熟樹状細胞から CD4 陽性 T 細胞への感染伝播系における HIV 増殖抑制効果が VSV Lenti shNef366 よりも高いことが示唆されたため、ヒト化マウス HIV 感染モデル系でその有効性を確認している。[渋沢謙太郎 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、石毛真行・岡田誠治 (熊本大学エイズ学研究センター)、寺原和孝、小林和夫、柳 雄介 (九州大学大学院医学研究院)、横田恭子]

(2) C-C chemokine receptor type 5 (CCR5) を補助受容体とする HIV-1 の選択的増殖機構の解析

HIV-1 初期感染における CCR5 指向性 (R5 型) HIV-1 の C-X-C chemokine receptor type 4 (CXCR4) 指向性 (X4 型) に対する優位な増殖性は昔から知られているが、その機構は不明である。ヒト末梢血から純化した CCR5<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 細胞に対して X4 型あるいは R5 型をそれぞれ単独で感染させた結果、膜融合、逆転写、integration に至る過程で X4 型よりも R5 型の方が早く進行する可能性が示唆された。現在は、X4 型・R5 型を同時に感染させた場合について確認している。[石毛真行 (熊本大学エイズ学研究センター)、寺原和孝、田中勇悦 (琉球大学医学部)、岡田誠治 (熊本大学エイズ学研究センター)、小林和夫、横田恭子]

(3) ヒト化マウスを用いた HIV 感染小型動物モデルの確立、ならびに in vivo における HIV 感染機構の解析

重度免疫不全マウス (NOD/SCID/Jak3 KO) の肝臓にヒト臍帯血由来造血幹細胞を移植してヒト化マウスを作製した。マウス体内でのヒト T 細胞の分化と活性化の特徴について解析した結果、加齢に伴い、活性化メモリー phenotype を示す CD4<sup>+</sup> T 細胞の割合が上昇することが明らかとなった。ヒト化マウスに R5 型 HIV-1 を接種したところ、CD4<sup>+</sup> T 細胞のナイーブ/メモリー phenotype の割合に応じて感染性が異なることが明らかとなった。すなわち、ナイーブ CD4<sup>+</sup> T 細胞の割合が高いヒト化マウスでは安定した血中ウイルス量が持続するのに対し、メモリー CD4<sup>+</sup> T 細胞の割合が高いヒト化マウスでは 10 倍程度高い血中ウイルス量を示した。以上の結果から、ヒト化マウスを HIV-1 感染モデルとして適用する際、CD4<sup>+</sup> T 細胞の性状を十分に勘案することが重要であると考えられる。[寺原和孝、石毛真行 (熊本大学エイズ学研究センター)、池野翔太 (北里大学生命科学研究科、研究生)、小林和夫、岡田誠治 (熊本大学エイズ学研究センター)、横田恭子]

(4) 単一細胞解析技術を用いた HIV 感染進行の解析

早稲田大学 竹山教授らの開発した Capillary PCR の技術を応用し、単一 T 細胞レベルで HIV 感染の進行状態を検出する系を確立することを目的として、条件検討を行った。用いたビーズのバックグラウンドが高く、期待される定量性は得られなかった。単一細胞のレベルで PCR 増幅を行うための装置を変更して現在条件検討中である。[鈴木基臣(早稲田大学大学院先端理工学研究科、研究生)、寺原和孝、モリテツシ(早稲田大学理工学術院・国際教育センター、協力研究員)、竹山春子(早稲田大学先進理工学部生命医科学科)、横田恭子]

(5) CD4<sup>+</sup>T 細胞の分化段階におけるマイクロ RNA による HIV 増殖抑制あるいは増進

マイクロ RNA (miRNA) は核内前駆体からプロセスされてできる約 22 塩基の小分子 RNA で、PTGS (Post-transcriptional gene silencing) に関与する。これまでに、ナイーブやセントラルメモリー分画の CD4<sup>+</sup>T 細胞に強発現する miRNA をいくつか同定し、レンチウイルスベクターを作製して HIV-1 潜伏感染細胞 (U937 および ACH-2) に導入した。GFP 発現をもとに確立した miRNA 分子発現細胞クローンを用いて HIV-1 増殖抑制効果の有無を検討中である。[光木裕也(エイズ予防財団リサーチレジデント)、山本拓也(米国国立衛生研究所ワクチン研究センター、協力研究員)、横田恭子]

(6) HIV-1 感染による麻疹ウイルス感染増悪機構の解析

健康人末梢血単核細胞 (PBMC) に HIV-1 と野生型麻疹ウイルス (MV) を重複感染させると、MV 単独よりも MV 感染細胞の頻度が増加した。そこで、HIV-1 感染 5 日後の CD4<sup>+</sup>T 細胞における MV 受容体 SLAM の発現について詳細に検討した結果、HIV-1 感染とその後のウイルス増殖に依存して CD4<sup>+</sup>T 細胞での SLAM 発現が高まることが明らかとなった。これには、サイトカインでなく DR 陽性細胞が関与しており、共刺激分子阻害抗体を用いた実験から、HIV に感染あるいは粒子を取り込んだ抗原提示細胞と T 細胞との相互作用が重要であることが明らかとなった。[光木裕也(エイズ予防財団リサーチレジデント)、寺原和孝、森川裕子・中山哲夫(北里大学生命科学研究所)、柳 雄介(九州大学大学院医学研究院)、竹田 誠(ウイルス第三部)、小林和夫、横田恭子]

(7) ヒト化マウスにおける enhanced green fluorescent protein (EGFP) 発現麻疹ワクチン株の増殖と免疫応答の解析

我々が作製したヒト化マウスにおいて麻疹ウイルスに対する T 細胞応答が検出できるかどうかを明らかにするため、green fluorescent protein (GFP) 発現麻疹ワクチン株ウイルス (AIK-C) をヒト化マウスに静脈投与し、感染動態、感染細胞の分布と同定を行った。10 の 5 乗 pfu 接種により麻疹感染細胞は 3 日より出現し、10 日目には特に CD4 陽性 T 細胞が減少した。[池野翔太(北里大学生命科学研究所、研究生)、石毛真行(熊本大学エイズ学研究センター)、寺原和孝、駒瀬勝啓(ウイルス第三部)、中山哲夫・森川裕子(北里大学生命科学研究所)、横田恭子]

(8) T 細胞疲弊化分子に対する単クローナル抗体の作成

慢性感染症では持続的抗原刺激によりサイトカイン産生や増殖能が低下した、いわゆる疲弊化 T 細胞が高頻度に出現する。これらの疲弊化分子の抑制シグナルを阻害す

る単クローナル抗体を得るため、昨年に引き続きサル 2B4 やヒト CD160 発現 A20.2J 細胞株をマウスに免疫し、血中抗体価が上昇したマウスの脾臓より得られたハイブリドーマ由来抗体を一部精製した。しかしながら、これまでに得られた抗体は親和性が弱く、阻害活性は期待できなかった。再度免疫方法を変更して継続している。[傅舟一(筑波大学大学院生命環境科学科、研究生)、大西和夫、山本拓也(米国国立衛生研究所ワクチン研究センター、協力研究員)、横田恭子]

2. インフルエンザに関する研究

(1) H5N1 高病原性鳥インフルエンザ高感度検出系の確立

免疫部が作成した抗 H5-HA 単クローナル抗体を、東洋紡(株)が開発した化学発光による抗原検出簡易装置に応用すべく、H5N1 高病原性鳥インフルエンザ診断キットを共同開発した。市販品よりも感度や特異性に優れた検出キットであることが示された。そこで、ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)の Mai ウイルス部長の協力を得て、H5N1 感染者検体を用いた試験を実施した。東洋紡の装置はインフルエンザ A/B 型診断感度に関しては市販品より優れていたものの、臨床検体はかなり希釈されているためウイルス量が少なく、H5 亜型診断の実用化にはより感度を高める工夫が必要であることが明らかとなった。[横田恭子、大西和夫、西村研吾(東洋紡敦賀研究所)小林和夫、影山 努・板村繁之(インフルエンザウイルス研究センター)]

(2) 新型インフルエンザ (H1N1/pdm) ウイルスを特異的に認識するマウスモノクローナル抗体のエピトープ解析

昨年度までに、新型インフルエンザウイルスを特異的に認識するマウスモノクローナル抗体を作製し、メーカーと共同で新型インフルエンザウイルス鑑別用の迅速診断免疫クロマトキットを開発した。本キットに使用している 2 種類の抗体について、NP タンパクを認識することを見いだすと同時に、エピトープ構造に重要な NP アミノ酸配列を同定した。[高橋宜聖、飛梅 実(感染病理部)、小林和夫]

(3) インフルエンザウイルスの感染防御に寄与する肺記憶 B 細胞に関する研究

インフルエンザウイルス経鼻感染後の肺において、記憶 B 細胞が長期に渡り維持され、感染防御に寄与することを見いだした。また、肺記憶 B 細胞は、脾臓記憶 B 細胞に比べて感染防御能が高く、これは気管内への抗体産生供給能力に優れていることが、その要因の 1 つであった。[高橋宜聖、小野寺大志、横井勇祐(東京大学大学院農学生命科学研究科、研究生)、阿戸 学、八村敏志(東京大学大学院農学生命研究科、協力研究員)、小林和夫]

(4) 不活化全粒子ワクチンに含まれるウイルス RNA による液性免疫記憶の活性化機構に関する研究

インフルエンザ不活化全粒子ワクチンに含まれる RNA は、抗体産生賦活作用を有すると考えられているが、その作用メカニズムは不明である。ウイルス RNA が記憶 B 細胞の再活性化に果たす役割を検証するため、自然免疫受容体である Toll-like receptor (TLR) からのシグナルを欠如したマウスを用いて記憶 B 細胞応答の変化を解析した。その結果、野生型の記憶 B 細胞は、T 細胞非存在下でも迅速にウイルス粒子に応答することが可能である一方で、TLR シグナルを欠損した記憶 B 細胞では、T

細胞非存在下でのウイルス粒子への応答性が完全に消失することが明らかとなった。[小野寺大志、高橋宜聖、小林和夫]

(5) ワクチン接種者で誘導された新型インフルエンザ(2009 A/H1N1/pdm) ウイルスに結合するヒトモノクローナル抗体の作製

ワクチン接種で誘導される抗体の結合部位や交差反応性を詳細に解析するため、ワクチン接種者の末梢血細胞から H1N1/pdm に特異的に結合する B 細胞を分離し、この単一 B 細胞から抗体 IgH/L 遺伝子をクローニングした。このヒト抗体遺伝子を細胞株に発現させることにより、H1N1/pdm のヘマグルチニンに結合するヒトモノクローナル抗体を得ることに成功した。[高橋宜聖、福原芳織(臨時研究補助員)、西村秀一(東北大学)、萩原温久(萩原医院)、信澤枝里(インフルエンザウイルス研究センター)、小林和夫]

(6) ウイルス感染に対する宿主抵抗因子に関する研究  
インフルエンザウイルス感染に際し肺胞上皮由来ヒト細胞株 A549 は感受性であり感染ウイルスを排除できずに死滅する。しかし、その中に多重感染にも関わらず死滅しない細胞集団を得て株化した。インフルエンザウイルス感染抵抗性株 A549-3S はその表現形や増殖において A549 細胞株と違いは見られない。ウイルス吸着から核移行までの間に抵抗性が発揮されることが明らかとなった。その抵抗性メカニズムを解明し宿主側を標的にした耐性ウイルスの生じにくい治療法の開発へと繋がることを目指している。[戸高玲子(非常勤職員)、大島正道、清水一史(日本大学医学部ゲノムセンター、客員研究員)]

(7) インフルエンザ誘導性の劇症肺炎の好中球機能による発症メカニズムの解明

インフルエンザウイルス感染による致死率の高い劇症呼吸器障害は、感染時において好中球の急激かつ大量の肺への浸潤によって引き起こされる。これまでの研究成果から、劇症肺炎の発症には、好中球の主要因子であるミエロペルオキシターゼが関わっていることが示唆される。そこで感染肺における好中球および myeloperoxidase (MPO) 活性に着目して肺炎発症メカニズムの解明を目指している。[菅又龍一(千葉大学医学部、協力研究員)、長尾朋和(千葉大学医学部、協力研究員)、富澤一夫(国立国際医療研究センター、協力研究員)、鈴木和男(千葉大学医学部、客員研究員)、戸高玲子(非常勤職員)、大島正道]

(8) インフルエンザウイルス亜型共通エピトープの性状解析

インフルエンザウイルス構成分子の一部に亜型間で共通したエピトープが存在することが明らかになって来ている。我々は、インフルエンザウイルスのヘムアグチニン(HA)分子について独自のデータベースを構築し、バイオインフォマティクス的手法を用いて型共通および型特異的エピトープを探索した。HA 分子の表面に露出する事から抗体のアクセシビリティの高い領域の立体構造を考慮した候補エピトープを同定した。これらのエピトープ特性を表現するペプチド抗原を複数設計し、モノクローナル抗体の作製を進めている。HA2 上の型共通エピトープを認識するモノクローナル抗体を捕捉抗体とし、型特異的 HA1 領域に対する検出抗体を組み合わせる事によって、検出システムの汎用性(全 HA 亜型指向性)と型特異性検出感度の両方を合わせ持つ優れたウイルス

検出システムを構築することを目的としている。[大西和夫、影山 努(インフルエンザウイルス研究センター)、田中仁喜(早稲田大学大学院基幹理工学研究所)、藤 博幸(産業技術総合研究所)、横田恭子]

3. C 型肝炎ウイルス(HCV)感染に関する研究

(1) HCV 感染に見られる short RNA に関する研究

C 型肝炎患者血液中及び肝組織内に HCV ウイルス short RNA が存在しその量比がウイルスの感染性、活動性と逆相関することを明らかにした。この short RNA 産生維持機構の解析を通してウイルス複製のメカニズムを解析し、現在確立されている特殊な細胞培養系ではなく一般的なウイルス genotype における効率よいウイルス細胞培養系を確立する。C 型肝炎治療におけるインターフェロン(IFN)の治療効果判定に short RNA が有用か調べた。short RNA の量比はウイルスの感染性、活動性と逆相関し IFN 治療効果判定の有用な基準となることが明らかとなった。さらに short RNA の産生メカニズムについて検討する。[大島正道、戸高玲子(非常勤職員)、清水洋子(神戸大学大学院医学研究科、客員研究員)、土方美奈子(国立国際医療研究センター研究所)、吉倉 廣(CODEX)]

(2) HCV 持続感染における RNA 干渉機構の解析

我々が発見した DNA, RNA 結合タンパク質、Translin およびその類似タンパク質である TRAX は、Translin/TRAX 複合体を形成し、miRNA (siRNA) の取り込み・相補的 RNA の切断に関わる RISC (RNA-induced silencing complex)の構成タンパク質として近年注目されている(Science 2009, Nat Struct Mol Biol 2011a,b, 2012)。本研究では、RNA ウイルスである HCV 持続感染において、Translin/TRAX の関与する RNA 干渉 (RNAi)の役割に着目して検討を行った。まず、HCV 感染が可能であるヒト肝培養細胞 Huh7.5.1 を用いて、Translin および TRAX 分子の siRNA によるノックダウンや発現ベクターによる過剰発現を検討した結果、TRAX 分子は単独では細胞内で存在できないことが明らかとなった。詳細な解析の結果、TRAX は Translin と複合体を形成できない状況で速やかに分解を受けることが判明した。またこの分解過程は mRNA レベルではなく、タンパク質レベルで行われ、TRAX のポリユビキチン化とプロテアソーム分解系が関与していることが示唆された。さらに、TRAX の C 末 82 アミノ酸を除去すると分解が抑制されることから、C 末端側のポリユビキチン化が分解に重要であるという結論に至った。[深澤征義(細胞化学部)、石田礼子(協力研究員)、葛西正孝]

4. A 型肝炎ウイルス特異的抗体産生 B 細胞の動態解析

A 型肝炎は B 型・C 型肝炎と異なり、キャリア化・慢性化しないことから、A 型肝炎ウイルス(HAV)感染後に誘導される免疫応答によるウイルス排除が強力・効果的に起こると考えられており、この過程で獲得された免疫記憶も長期に渡って保持されることが示唆されている。本研究の目的は、A 型肝炎免疫記憶形成における B 細胞分化の解析を行うことである。これまでに、HAV に対する特異的抗体や免疫記憶解析のためのモノクローナル抗体(mAbs)の作製、特異的抗体価定量のための ELISA 系の確立を行った。さらに、これらの mAbs を使ったフローサイトメトリーにより HAV 特異的な抗体産生 B 細胞を検出することに成功した。HAV ワクチン免疫マウス/非免疫マウス由来の B 細胞に HAV を反応させた時、HAV 特異的な抗体産生 B 細胞(HAV<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞)は HAV 免

疫マウスでのみ有意に検出された。HAV<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞中には HAV 特異的抗体産生メモリー様 B 細胞 (HAV<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>細胞) も含まれていた。[望月康子・陳 富 (筑波大学大学院生命環境科学研究科、研究生)、山口沙由里(非常勤職員)、小林和夫、大西和夫]

## 5. ワクチンに関する基礎的研究

(1) サルエイズワクチンモデルにおけるヘルパーT 細胞機能の解析

新たなエイズ予防ワクチンとして、センダイウイルスベクターを用いた細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導型ワクチンが注目を浴びている。このワクチン効果における作用機序の解明の一端として、ウイルス抗原特異的ヘルパーT 細胞反応の解析を進めている。ワクチン接種・SIV 感染サル慢性持続感染期の末梢血リンパ球を用いた解析から、IL-2 発現能を有するサル免疫不全ウイルス

(SIV) 特異的ヘルパーT 細胞の頻度が SIV 複製抵抗性に対して有意な関連性を示した。現在は、本サルエイズモデルにおいて、感染時期 (ワクチン接種後/感染前、感染急性期、感染慢性期) ごとのウイルス抵抗性に関連するヘルパーT 細胞の機能パラメータの同定を進めている。[寺原和孝、横田恭子、光木裕也 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、俣野哲朗 (エイズ研究センター)]

## II. 細菌感染症

### 1. 抗酸菌感染症に関する研究

(1) 抗酸菌における sliding motility と細胞侵入能の関連性

抗酸菌は菌体表面に厚い脂質の層を持ち、増殖に伴って表面を広がる sliding 能を示す。作製した sliding 能欠損変異株を細胞に感染させたところ、貪食細胞および非貪食細胞の両方で取り込みが低下していることが分かった。これにより sliding を引き起こす菌体因子や分子機構が、細胞へアプローチする際にも貢献すると推察される。[岡部真裕子、大原直也 (岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員)、藤原永年・中 崇 (大阪市立大学大学院医学研究科)、阿戸 学、小林和夫]

### (2) 潜在性結核菌感染症

多くの活動性成人結核は潜在性結核菌感染に起因する。潜在性結核菌感染者は全世界人口の約 30% であり、結核対策に重要である。潜在性結核菌感染における休眠菌の制御系を分子生物学的に解析した。休眠菌に高発現する抗酸菌 DNA 結合蛋白質 1 (MDP1) は鉄代謝 (Fe<sup>2+</sup> の還元や蓄積) にも関与していた。その結果、活性酸素の生成を抑制し、抗酸菌の DNA 損傷を回避することにより、菌の生存に関与していた。[高塚正樹・岡 真優子・仁木満美子・松本壮吉 (大阪市立大学大学院医学研究科、客員研究員)、小林和夫]

また、休眠期抗酸菌関連蛋白質を抗原として、潜在性結核菌感染の血清診断を試みた。血清抗 MDP1 や Ag85-IgG 抗体価は潜在性 (治癒後) 結核患者で活動性結核に比し、有意に高値を示した。潜在性結核菌感染症の血清診断で結核菌由来 MDP1 や Ag85 抗原は有用な候補抗原と考えられる。[岡 真優子・仁木満美子・松本壮吉 (大阪市立大学大学院医学研究科、客員研究員)、北田清悟・前倉亮治 (国立病院機構刀根山病院)、小林和夫]

結核高蔓延国であるケニア共和国において、潜在性結核菌感染率の把握と感染リスクの特定を目的とし、学生を対象に調査を行った。結核菌特異的抗原に対する免疫応答を調べ結核菌感染者の検出を行ったところ、地域により感染率は大幅に異なることが分かった。また多重口

ジスティック回帰分析によるリスク検討を行い、結核菌感染との関連が示唆される複数の検査項目を特定した。[岡部真裕子、小林和夫、阿戸 学、尾関百合子・井上学・松本壮吉 (大阪市立大学大学院医学研究科、客員研究員)]

### (3) 薬剤依存性結核菌の遺伝学的解析

潜在性結核菌感染における結核菌の休眠・再燃を解析するツールとして、ストレプトマイシン (SM) の存在下でのみ増殖する SM 依存性結核菌 18b 株が使用されている。18b 株の 16S リボソーム RNA (rRNA) 遺伝子解析を行った結果、18b 株には 3 つの異なるサブタイプが存在することが明らかとなった。これら 3 種類の 16SrRNA を持つ遺伝子組換え BCG を作成して SM 依存性を解析した結果、塩基配列 512 位の後ろに C が挿入される (512CC) と、SM 依存性になり、13 位が G に、あるいは 555 位が A になると、512 位の C 挿入の有無にかかわらず、SM 依存性が消失し、耐性となることが判明した。[阿戸 学、松村隆之、本田尚子 (放射能管理室)、山崎利雄 (バイオセーフティ管理室)、佐藤法仁・大原直也 (岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員)、小林和夫]

(4) *Mycobacterium avium* complex (MAC) 感染症の迅速血清診断

MAC 感染症は「臨床所見 (画像、経過) および微生物学的検査」を総合的に考慮し診断される。このため、確定診断に長期間 (1 ヶ月以上) を要することが多い。多施設臨床試験結果から、MAC 特異抗原 (糖脂質ペプチド) を用いたヒト血清抗体検出による診断の感度: 84%、特異度: 100% であることが判明し、迅速・簡便血清診断 (所要時間: 約 3 時間) として有用である。体外診断用医薬品として製造販売承認後、薬価収載され、2011 年 8 月から保険医療における検査対象項目となった。[小林和夫、北田清悟・前倉亮治 (国立病院機構刀根山病院)]

(5) *Mycobacterium bovis* (bacillus Calmette-Guérin、BCG) に関する研究

結核ワクチンである BCG 東京株には集落の形状から 2 垂株が存在する。各垂株の形態、細胞壁脂質構成や宿主応答を解析した。その結果、細胞壁脂質構成の相異が形態や宿主免疫応答に関与していることが判明した。[中崇・仁木満美子・藤原永年 (大阪市立大学大学院医学研究科)、前田伸司 (結核研究所抗酸菌レファレンス部)、大原直也 (岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員)、前山順一 (血液・安全性研究部)、山本三郎・矢野郁也 (日本 BCG 研究所)、小林和夫]

成人結核における BCG の効果は疑問視されているが、幼弱および高齢マウスを用い、その機序の解明を試みた。その結果、効果は加齢に依存せず、ワクチン接種後の期間、すなわち、長期間で減弱することが判明した。[尾関百合子・平山幸雄・松本壮吉 (大阪市立大学大学院医学研究科、客員研究員)、山本三郎 (日本 BCG 研究所)、小林和夫]

### 2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究

(1) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における好中球傷害の分子機構

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の好中球傷害の機序として、劇症型感染分離株において高発現しているストレプトリシン O (SLO) が、好中球ネクロシスを誘導することがその一因である。しかし、劇症型分離株の培養液のみを好中球と培養しても、好中球のネクロシスは

誘導されなかったことから、劇症型分離株の SLO を介する好中球障害は、接触依存性に生じることが示唆された。この仮説を検証するため、green fluorescence protein (GFP) 発現劇症株、非劇症株を用いて検討した結果、劇症株と好中球が接触することが SLO による孔形成に必須であることが明らかとなった。その機序として、劇症型分離株は、カルシウム依存的に好中球表面の  $\beta$  インテグリンに結合し、接触面で分泌が増強された SLO と NAD-glycohydrolase (NADase) (Nga) により効果的に好中球障害をもたらすことが示唆された。[阿戸 学、松村隆之、池辺忠義・大西 真 (細菌第一部)、渡邊治雄 (所長)、小林和夫]

### (2) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における新規 IFN- $\gamma$ 産生未成熟骨髄系細胞の役割

劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関わる宿主因子については不明な点が多い。今回、ヒト劇症型感染例および劇症型感染マウスの血中サイトカイン量を測定した結果、種々のサイトカインの中でも特に interferon (IFN)- $\gamma$  量が增大していることが判明した。IFN- $\gamma$  中和抗体投与マウスや IFN- $\gamma$  欠損マウスを劇症型感染させると、コントロールマウスと比べ急速に死亡したことから、劇症型感染における IFN- $\gamma$  は宿主防御因子の一つであると考えられた。これまで GAS 感染における IFN- $\gamma$  は A 群レンサ球菌 (GAS) 由来スーパー抗原により活性化された T 細胞や、種々の感染症において IFN- $\gamma$  を産生する NK 細胞から産生されると考えられてきたが、劇症型感染早期において IFN- $\gamma$  は、T 細胞や NK 細胞からではなく未成熟骨髄系細胞の新たなサブセットから産生されることを見出した。さらに、劇症型感染マウスの生存率と菌のクリアランスは本サブセットを養子細胞移入することにより改善された。以上の結果から、IFN- $\gamma$  を産生する新規未成熟骨髄系細胞は劇症型溶血性レンサ球菌感染症において宿主防御に貢献していると考えられた。[松村隆之、阿戸 学、池辺忠義・大西 真 (細菌第一部)、渡邊治雄 (所長)、小林和夫]

### 3. 類鼻疽の宿主防御に関する研究

#### (1) 類鼻疽における糖尿病患者由来好中球防御機能異常

類鼻疽は *Burkholderia pseudomallei* によって起こる重篤で治療困難な感染症である。*B. pseudomallei* は食された後、細胞質へエスケープして殺菌を逃れ、菌体の尾部に宿主のアクチンを再重合させて細胞質内を移動しながら増殖し、さらに、近隣の細胞に感染を広げると考えられている。しかし、好中球に感染した場合、細胞内 *B. pseudomallei* 数は、時間とともに減少することから、好中球では *B. pseudomallei* のエスケープ機構が障害されていることが考えられた。共焦点顕微鏡を用いて、詳細に解析した結果、好中球に感染した *B. pseudomallei* は、菌の尾部にアクチンの重合と、細胞質内の菌を認めないことから、好中球にとりこまれた *B. pseudomallei* は、細胞質にエスケープできないことが示唆された。[阿戸 学、Darawan Rinchai (研究生)・Donporn Riyapa・Chidchamai Kewcharoenwong・Ganjana Lertmemongkolchai (Khon Kaen 大学医療学部、タイ王国)、谷田以誠 (細胞化学部)]

### III. 原虫・寄生虫感染症

#### 1. 内蔵リーシュマニア症における慢性感染機序に関する研究

##### (1) CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>レギュラトリー T 細胞の役割

内蔵リーシュマニア症を起こす原虫 *Leishmania*

*donovani* のマウス感染において、肝臓の感染は、獲得免疫系の活性化により肉芽腫が形成され、一過性であることが知られている。しかし、NIK 突然変異によりリンパ節を欠損する *aly/aly* マウスに *L. donovani* を感染させると、肉芽腫の形成が阻害され、持続感染となることが判明した。*aly/aly* マウスでは、慢性感染期肝臓の未成熟な肉芽腫内に多数の CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>レギュラトリー T 細胞 (Treg) が存在しており、抗体の投与によってこれらの Treg を除去すると、野生型マウスとほぼ同程度の感染の改善を認めた。以上より、*aly/aly* マウスにおける *L. donovani* 感染の持続は、増加した Treg の免疫抑制によることが明らかとなった。[阿戸 学、Saruda Tiwananthagorn・櫻井達也・片倉 賢 (北海道大学大学院獣医学研究科)、岩瀬和也 (北里大学大学院医療系研究科)]

#### 2. マンソン住血吸虫感染マウス血清の抗体測定実験

(1) マンソン住血吸虫感染マウス血清の抗体測定実験  
弱毒化シストソミューラとアジュバント併用感作で強い感染防御効果を得た実験マウスの血清抗体価を測定する目的で、シストソミューラ (感作抗原) に対する抗体価測定を試みた。シストソミューラ可溶性抗原の作成は多数のシストソミューラを必要とする為、少ない抗原での測定として、シストソミューラの免疫染色を行った。生きたシストソミューラの免疫染色は体表コレステロール存在の為、染色されず、シストソミューラを脱コレステロール (アラキドン酸処理) 後、固定することで免疫染色が可能となった。この方法による感作感染防御マウスの抗体価測定が可能かを調べる為、初めに感染のみ (実験対照群) のマウスの段階希釈血清を用いた力価が蛍光顕微鏡で観察・測定された。結果は、極めて弱い免疫染色で、力価測定は困難であった。次に、感作後、感染を受けたマウスで測定し、強い免疫染色が得られ、この群での力価測定が可能となった。[平山中己、吉成正裕 (横浜市立大学大学院医学研究科)]

#### (2) マンソン住血吸虫感染防御実験マウス血清の抗体価測定実験

弱毒化シストソミューラとアジュバント併用感作後、強い感染防御効果を示した実験マウス群内の個体で、完全 (100%) 防御と不完全 (75%) 防御を示した各 2 個体 (計 4 個体) 間での血清抗体価に差があるか否かが調べられた。測定した抗体は IgG、IgA、IgM、IgE と IgG の 4 サブクラスで、感作抗原 (シストソミューラ) に対する免疫染色法による相対的力価測定が行われた。結果は、IgG、IgM 抗体価の測定が可能で、両個体間での差は認められなかった。IgG サブクラスでの力価測定では、すべてのサブクラスの力価測定が可能で、両個体間での力価に差は認められなかった。これらの結果は、上記感作による強い防御効果を示した実験群マウスの個体で、完全防御と不完全防御の個体間の感染防御効果の強弱とシストソミューラ体表抗原 (感作抗原) に対する抗体価との間に相関関係の無いことを示唆するものであった。[平山中己、吉成正裕 (横浜市立大学大学院医学研究科)]

### IV. 免疫機能に関する研究

#### 1. プレ B 細胞受容体の機能に関する研究

感染症に対する液性免疫の主要な機能分子である抗体を産生する B リンパ球には、分化初期の抗体遺伝子 VDJ 再構成に伴って細胞表面にプレ B 細胞受容体を発現する。プレ B 細胞受容体は、VDJ 遺伝子再構成の結果発生した抗体分子の抗原認識多様性が免疫系に組み込まれる経路の品質管理を行い、個体免疫系における抗体の抗原認識

レパトリーの構築を制御する。本研究では、プレB細胞受容体立体構造のホモロジーモデリングと分子動力学シミュレーションを行うことにより、当該受容体を特徴づける分子構造である Non-Ig 領域の構造予測モデルの構築と評価を行っている。このことは、感染症などにより引き起こされる抗体分子の抗原認識レパトリーの動態変化を予測することに役立ち、感染症学をはじめ、自己免疫関連分野、ワクチン学など、抗体分子が関与する各方面の問題解決に広く寄与すると考える。[大西和夫、野口 保 (産業技術総合研究所)、藤本浩文 (放射能管理室)、藤 博幸 (産業技術総合研究所)、傳 舟一 (筑波大学大学院生命環境科学研究科、研究生)、Lill Martensson (バブラハム研究所、英国)、Fritz Melchers (マックス・プランク感染生物学研究所、ドイツ連邦共和国) ]

## 2. 抗体産生B細胞分化における BILL カドヘリンの機能に関する研究

ワクチンにより誘導される免疫記憶の形成・発動過程を知ることは、ワクチン効果の最適化につながる。我々が同定・クローニングした BILL-cadherin (cadherin-17) は、免疫担当B細胞及び小腸上皮細胞等粘膜免疫関連組織に強く発現する分子で、この遺伝子を欠損させたマウスでは免疫記憶機能にも異常がある。BILL-cadherin は記憶B細胞に再帰的に発現することから免疫記憶の形成過程に働く細胞接着分子である可能性が示唆される。BILL-cadherin の作用機序を分子レベルで明らかにすることにより、免疫記憶形成に秀でた新しいワクチン技術の開発を目指している。[傳 舟一 (筑波大学大学院生命環境科学研究科、研究生)、清水健之 (高知大学医学部)、村田英崇・春原正隆 (日本歯科大学、協力研究員)、沼田 治 (筑波大学大学院生命環境科学研究科)、Fritz Melchers (マックス・プランク感染生物学研究所、ドイツ連邦共和国)、小林和夫、大西和夫]

## 3. 腸管上皮細胞に発現するカドヘリン分子と病原体の細胞侵入機構に関する研究

腸管は病原体が生体に侵入する主要な部位の一つであり、腸管上皮には細菌やウイルスが標的とする分子が多数存在する。我々がクローニングした BILL カドヘリンは、Bリンパ球とともに小腸上皮にも強く発現しており、腸内病原体の細胞侵入標的分子となっている可能性が示唆されていた。この可能性を検討するために、本研究では、BILL カドヘリンを侵入標的とする病原体についてフローサイトメトリー法を応用して網羅的に定量化・スクリーニングする *in vitro* 実験系を構築した。この実験系の陽性対照としては、既知の病原体・標的分子の組み合わせである *Listeria* と E カドヘリンの相互作用を設定し、その定量的な検出に成功している。この実験系を用いて、各種腸内病原体侵入機構への BILL カドヘリンの関与について検討を進めている。予備的な実験では、BILL カドヘリンまたはEカドヘリンと有意な結合性を持った菌種が複数同定されている。[傳 舟一 (研究生)・沼田 治 (筑波大学大学院生命環境科学科)、大西 真 (細菌第一部)、Fritz Melchers (マックス・プランク感染生物学研究所、ドイツ連邦共和国)、小林和夫、大西和夫]

## 品質管理に関する業務

### I. 急性 A 型ウイルス (HAV) 肝炎診断薬承認前審査業務

体外診断薬承認前検査担当項目として、承認申請のあった A 型肝炎ウイルス (HAV) 抗体測定用キットについて、標準血清パネルを用いて感度・特異性及び再現性試

験を行う。また、この検査に必要な HAV 抗体国内血清パネルの整備を行う。すなわち、国内で発生する HAV 集団感染などに際して IgM 型 HAV 抗体陽性血清を収集し、抗体価を測定評価して血清パネルを拡充する。これまでに日本赤十字社の協力を得て、IgG 型 HAV 抗体陽性血清多数について公的標準パネルの整備を行った。急性 A 型肝炎の発生報告数は年々減少傾向にあり、HAV 抗体陽性血清の確保が困難になってきている。今後さらに HAV 抗体陽性血清をインフォームドコンセントの上で血清検体の提供を受け、その品質を管理して HAV 抗体国内血清パネルの整備を続ける。この整備事業は、「ウイルス検出を目的とした体外診断薬の再評価技術基盤に関する研究」(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)の補助を受けて進めている。[大西和夫、山口沙由里(非常勤職員)、小林和夫]

## 国際協力関係業務

I. 台湾 CDC-抗酸菌センターおよび国立台湾大学医学院附設医院内科部と肺 MAC 感染症の血清診断について、共同研究計画を策定した。[小林和夫、周 如文 (台湾行政院衛生署疾病管制局)、王 振源 (国立台湾大学医学院附設医院内科部)、北田清悟・前倉亮治 (国立病院機構刀根山病院) ]

II. Khon Kaen 大学 (タイ王国) と細菌感染症 (特に、類鼻疽) の免疫応答について共同研究を推進し、4 月から 12 月まで Khon Kaen 大学の博士課程大学院生 1 名を研究生として受け入れ、実験手技と共同研究の指導にあたった。[阿戸 学]

## 研修業務

### I. 医師卒後臨床研修

医師卒後臨床研修として「結核など抗酸菌感染症」に関し、2011 年 10 月 24 日、講義した。[小林和夫]

### II. 大学など教育機関における講義や研修

慶應義塾大学医学部 (11 月 07 日) で招請講義した。[阿戸 学]

長崎大学熱帯医学研究所や大学院医歯薬学総合研究科 (6 月 21、22 日)、早稲田大学化学・生物総合管理再教育講座 (知の市場: 感染症総合管理 1b、10 月 04 日)、昭和大学医学部 (11 月 11 日)、岡山大学大学院医歯薬総合研究科や歯学部 (2012 年 1 月 18 日) などで招請講義した。[小林和夫]

## 共同利用機器管理

所内・所外の利用者による機器の利用を円滑にするため、機器の定期的な保守、点検を行い、故障等のトラブルには早急に対処した。機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存し、平成 23 年度の使用実績は、798 回、1,704 時間であった。また、新規使用者や、特殊な操作法を希望する使用者に関しては、個別に技術指導を行った。[泉山枝里子 (非常勤職員)、高橋宜聖、小林和夫]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Terahara, K., Yamamoto, T., Mitsuki, Y-y, Shibusawa, K., Ishige, M., Mizukoshi, F., Kobayashi, K., and Tsunetsugu-Yokota, Y. 2012. Fluorescent reporter signals, EGFP and DsRed, encoded in HIV-1 facilitate the detection of productively infected cells and cell-associated viral replication levels. *Front. Microbiol.* 2: 1-11.
- 2) Salaun, B., Yamamoto, T., Bardran, B.,

- Tsunetsugu-Yokota, Y., Roux, A., Baitsch, L., Rouas, R., Fayyad-Kazan, H., Baumgaertner, P., Devevre, E., Ramesh, A., Braun, M., Speiser, D., Autran, B., Martiat, P., Appay, V., and Romero, P. 2011. Differentiation associated regulation of microRNA expression in vivo in human CD8+ T cell subsets. *J. Transl. Med.* 9: 44-52.
- 3) Matsumura, T., M. Ato, T. Ikebe, M. Ohnishi, H. Watanabe, and K. Kobayashi. 2012. Interferon- $\gamma$ -producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A *Streptococcus* infections. *Nat. Commun.* 3: 678. doi: 10.1038/ncomms1677.
  - 4) Fujii H, Ato M, Takahashi Y, Otake K, Hashimoto S, Kaji T, Tsunetsugu-Yokota Y, Fujita M, Adachi A, Nakayama T, Taniguchi M, Koyasu S, and Takemori T. 2011. HIV-Nef impairs multiple T cell functions in antigen-specific immune response in mice. *Int. Immunol.* 23: 433-441.
  - 5) Murase Y, Konnai S, Hidano A, Githaka NW, Ito T, Takano A, Kawabata H, Ato M, Tajima T, Tajima M, Onuma M, Murata S, and Ohashi K. 2011. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in cattle and *Ixodes persulcatus* ticks. *Vet. Microbiol.* 149: 504-507.
  - 6) Shi G, Yagyu F, Shimizu Y, Shimizu K., Oshima M., Iwamoto A., Gao B., Liu W., Gao G F., Kitamura Y. 2011. Flow cytometric assay using two fluorescent proteins for the function of the internal ribosome entry site of hepatitis C virus. *Cytometry Part A* 79A: 653-660.
  - 7) Sugamata R., Dobashi H., Nagao T., Yamamoto K., Nakajima N., Sato Y., Aratani Y., Oshima M., Sata T., Kobayashi K., Kawachi S., Nakayama T., and Suzuki K. 2012. Contribution of neutrophil-derived myeloperoxidase in the early phase of fulminant acute respiratory distress syndrome induced by influenza virus infection. *Microbiol. Immunol.* 56: 171-182.
  - 8) Harada, Y., Ninomiya-Mori, A., Takahashi, Y., Shirakura, M., Kishida, N., Kageyama, T., Tada, Y., Tashiro, M., and Odagiri, T. 2011. Inactivated and adjuvanted whole-virion clade 2.3.4 H5N1 pre-pandemic influenza vaccine possesses broad protective efficacy against infection by heterologous clades of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in mice. *Vaccine* 29: 8330-8337.
  - 9) Onodera, T., Takahashi, Y., Yokoi, Y., Ato, M., Kodama, Y., Hachimura, S., Kurosaki, T., and Kobayashi, K. 2012. Memory B cells in the lung participate in protective humoral immune responses to pulmonary influenza virus reinfection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109: 2485-2490.
  - 10) Ohnishi K, Takahashi Y, Kono K, Nakajima N, Mizukoshi F, Misawa S, Yamamoto Y, Mitsuki Y, Fu S, Hirayama N, Ohshima M, Ato M, Kageyama T, Odagiri T, Tashiro M, Kobayashi K, Itamura S, and Tsunetsugu-Yokota Y. 2012. Immunological detection of H5N1 influenza viruses by newly established monoclonal antibodies. *Jpn. J. Infect. Dis.* 65: 19-27.
  - 11) Knoll M, Yanagisawa Y, Simmons S, Engels N, Wienands J, Melchers F, and Ohnishi K. 2012. The non-Ig parts of the VpreB and  $\lambda 5$  proteins of the surrogate light chain play opposite roles in the surface representation of the precursor B cell receptor. *J. Immunol.* 188: 6010-6017.
  - 12) Ishida R, Aoki K, Nakahara K, Fukuda Y, Ohhori M, Saito Y, Kano K, Matsuda J, Asano S, Maziarz RT, Kasai M. 2012. Translin/TRAX deficiency affects mesenchymal differentiation programs and induces bone marrow failure. *Stem Cells and Human Diseases* Springer-Verlag. Chapter 21, p468-476.
  - 13) Hirai S, Miwa A, Ohtaka-Maruyama C, Kasai M, Okabe S, Hata Y, and Okado H. 2012. RP58 controls neuron and astrocyte differentiation by downregulating the expression of Id1-4 genes in the developing cortex. *EMBO J.* 31: 1190-1202.
  - 14) Kobayashi, K., M. Ato, and S. Matsumoto. 2011. Global threats and the control of multidrug-resistant tuberculosis. *J. Disaster Res.* 6: 443-450.
  - 15) Takatsuka, M., M. Osada-Oka, E. F. Satoh, K. Kitadokoro, Y. Nishiuchi, M. Yoshimura-Niki, M. Inoue, K. Iwai, T. Arakawa, Y. Shimoji, H. Ogura, K. Kobayashi, A. Rambukkana, and S. Matsumoto. 2011. A histone-like protein of mycobacteria possesses ferritin superfamily protein-like activity and protects against DNA damage by Fenton reaction. *PLoS One* 6: e20985.
  - 16) Naka, T., S. Maeda, R. M. Niki, N. Ohara, S. Yamamoto, I. Yano, J.-i. Maeyama, H. Ogura, K. Kobayashi, and N. Fujiwara. 2011. Lipid phenotype of two distinct subpopulations of *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin Tokyo 172 substrain. *J. Biol. Chem.* 286: 44153-44161.
  - 17) Ozeki, Y., Y. Hirayama, T. Takii, S. Yamamoto, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2011. Loss of anti-mycobacterial efficacy in mice over time following vaccination with *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin. *Vaccine* 29: 6881-6887.
  - 18) Naka, T., N. Nakata, S. Maeda, R. Yamamoto, M. Doe, S. Mizuno, M. Niki, K. Kobayashi, H. Ogura, M. Makino, and N. Fujiwara. 2011. Structure and host recognition of serotype 13 glycopeptidolipid from *Mycobacterium intracellulare*. *J. Bacteriol.* 193: 5766-5774.
2. 和文発表
- 1) 阿戸 学. 2012. 「寄生虫」「原虫」「リケッチア」「リーシュマニア症」127, 167, 395, 431, 432. 大西 真、阿戸 学. 「性感染症／性行為感染症」、267-268. 免疫の事典、朝倉書店、桂 義元・河本 宏・小安重夫・山本一彦 編.
  - 2) 高橋宜聖、小野寺大志、小林和夫. 2011. ウイルス感染局所における記憶 B 細胞応答、実験医学増刊、羊土社、81-86、vol.29, No.17.
  - 3) 大西和夫. 2011. 免疫の事典 -Dictionary of Immunology-. 朝倉書店、桂 義元・河本 宏・小安重夫・山本一彦 編
  - 4) 大西和夫. 2012. 免疫学・感染症. 生物小事典 (電子辞書化). 三省堂. 猪川倫好監修、三省堂編修所.
- II. 学会発表
1. 国際学会
    - 1) Matsumura, T., T. Ikebe, M. Ohnishi, H. Watanabe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2011. A novel interferon- $\gamma$ -producing subpopulation of immature myeloid cells confers protection from severe invasive group A *Streptococcus* infections. Joint International Meeting of The 76th Annual Meeting of The Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The 19th International Symposium of Macrophage Molecular and Cell Biology (泉佐野、5月).
    - 2) Matsumura, T., T. Ikebe, M. Ohnishi, H. Watanabe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2011. The protective role of a novel population of interferon- $\gamma$ -producing cells in severe invasive group A streptococcal infections. XVIII Lancefield International Symposium (Palermo, Italy、9月).
    - 3) Mitsuki, Y-y., Shibusawa, K., Terahara, K., Kobayashi, K., Moriakwa, Y., Takeda, M., Yanagi, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2011. HIV-1 infection enhances the susceptibility of T cells to measles virus infection by upregulating signaling lymphocyte activation molecule (SLAM) expression. International Union of

- Microbio-logical Societies 2011 Congress XV International Congress of Virology. (札幌、9月).
- 4) Shimizu, K., Shibata, T., Nishikawa, T., Toyosawa, K., Sasaki, Y., Tanaka, T., Kuroda, K., Todaka, R., Oshima, M., Yamamoto, T. 2011. Loss-of-function mutation on NS1 gene enhances the virulence of influenza virus in mice. IUMS 2011 XV, International Congress of Virology. (札幌、9月).
  - 5) Ato, M., T. Ikebe, T. Matsumura, M. Ohnishi, H. Watanabe, K. Kobayashi. 2011. Contact with group A *Streptococcus* isolated from severe invasive infections induces rapid necrosis of human neutrophils. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌、9月).
  - 6) Chiba, S., T. Nagai, T. Matsumura, M. Ato, A. Abe, and K. Koyasu. 2011. Role of internalin B in the gastrointestinal infection of and host immune response to *Listeria monocytogenes*. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌、9月).
  - 7) Satoh, N., M. Ato, T. Matsumura, T. Yamazaki, T. Sekizuka, M. Kuroda, N. Honda, M. Nakayama, K. Tsuchida, K. Kobayashi, and N. Ohara. 2011. Identification of the novel mutations in 16S rRNA gene of the substrains of a streptomycin-dependent *Mycobacterium tuberculosis* 18b which confer streptomycin resistance in *Mycobacterium*. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌、9月).
  - 8) Okabe M, Ohara N, Fujiwara N, Naka T, Ato M, and Kobayashi K. 2011. Sliding-defect mutants of *Mycobacterium smegmatis* have lower ability to enter nonphagocytic cells. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌、9月).
  - 9) Tsunetsugu-Yokota, Y. 2011. HIV-1 transmission through immunological synapse and T-cell activation: How can we control virus replication? US-Japan AIDS Panel Meeting. (Atlanta, アメリカ合衆国、9月).
  - 10) Ato M. 2011. Regulatory genes of multiple virulence factors involved in severe invasive group A streptococcus infection. 2011. Singapore-Japan Joint Forum in Emerging Concepts in Microbiology (Singapore, シンガポール共和国 11月).
  - 11) Tsunetsugu-Yokota, Y., Ishige, M., Mitsuki, Y-y., Shibusawa, K., Okada, S., Terahara, K. 2011. Impact of selective infection and expansion of CCR5-utilizing HIV-1 in CD4+CXCR4highCCR5+ memory T cells in humanized mouse model. 8th German-Japanese HIV-Symposium. (Bochum, ドイツ連邦共和国、11月).
  - 12) Takahashi, Y., Onodera, T., Yokoi, Y., Ato, M., Hachimura, S., Kurosaki, T., Kobayashi, K. 2012. Memory B cells in the lung participate in protective humoral immune responses to pulmonary influenza virus reinfection. Keystone Symposia, Viral Immunity and Host Gene Influence(招待講演)(Keystone, アメリカ合衆国、3月).
2. 国内学会
    - 1) 小林和夫. 2011. 現代における感染症の脅威と制圧戦略 (メインシンポジウム: 次世代の予防戦略に果たす衛生学の役割). 日本衛生学会雑誌, 66: 250-251. 第81回日本衛生学会学術総会 (東京、3月->Web-IT開催).
    - 2) 小林和夫、光山正雄. 2011. 結核研究の最先端 (シンポジウム 10-S-4). 学術講演要旨 246. 第28回日本医学会総会 (東京、4月->誌上開催).
    - 3) 松本壮吉、岡 真優子、北田清悟、前倉亮治、小林和夫. 2011. 結核研究の最先端 (シンポジウム 10-S-4). 学術講演要旨 246. 第28回日本医学会総会 (東京、4月->誌上開催).
    - 4) 小林和夫. 2011. 潜在性抗酸菌感染症における橋渡し研究. 第4回結核研究会. 結核予防会結核研究所 (東京、4月).
    - 5) 森田康裕、松本壮吉、小林和夫、木下タロウ. 2011. マンナン生合成の異常は結核菌細胞壁のバリア機能を弱め、結核菌をβ-ラクタム系薬剤感受性にする. 結核, 86: 372. 第86回日本結核病学会総会 (東京、6月).
    - 6) 佐藤法仁、山崎利雄、小林和夫、大原直也. 2012. ストレプトマイシン依存性結核菌 18b 株の依存性に関与する遺伝子変異の解明と新たなストレプトマイシン耐性を誘導する遺伝子発見の発見. 結核, 87: 231. 第87回日本結核病学会総会 (広島、6月).
    - 7) Saruda Tiwananthagorn、岩濑和也、阿戸 学、櫻井達也、片倉 賢. 2011. CD4+Foxp3+ regulatory T cells in the persistent infection of *Leishmania donovani* in the liver of immunodeficiency aly/aly mice. 第80回日本寄生虫学会大会 (東京、7月).
    - 8) 小林和夫. 2011. 感染症における宿主免疫応答と橋渡し研究 (Workshop 7 感染症、免疫不全・免疫異常症). 日臨誌, 34: 268. 第39回日本臨床免疫学会総会 (東京、9月).
    - 9) 松本壮吉、小林和夫. 2011. 結核菌の休眠現象と潜在性結核 (Symposium 1S9s 再考 VNC: viable but not-culturable cells! 細菌に学ぶ生残戦略). 生化学, 83: 47. 第84回日本生化学会大会 (京都、9月).
    - 10) 佐藤法仁、阿戸 学、松村隆之、本田尚子、山崎利雄、関塚剛史、黒田 誠、中山真彰、土田耕三、小林和夫、大原直也. 2011. Streptomycin 依存性結核菌における遺伝子変異の解明と Streptomycin 耐性を誘導する新たな遺伝子変異. 第64回日本細菌学会中国・四国支部総会 (岡山、10月).
    - 11) 松村隆之、小林和夫、阿戸 学. 2011. IFN-γ-producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A streptococcal infections in mice. 第40回日本免疫学会総会・学術集会 (千葉、11月).
    - 12) 横井勇祐、小野寺大志、八村敏志、阿戸 学、小林和夫、高橋宜聖. 2011. Localization and reactivation of virus-specific memory B cells at the site of virus infection. 第40回日本免疫学会学術集会 (千葉、11月).
    - 13) 中藤 学、長谷耕二、鈴木道雄、西田教行、堀内基宏、阿戸 学、大野博司. 2011. Cellular prion protein on Peyer's patch M cells serve as invasive receptor of a zoonotic pathogen *Brucella abortus*. 第40回日本免疫学会学術集会 (千葉、11月).
    - 14) Takahashi, Y., Onodera, T., Yokoi, Y., Kurosaki, T., Kobayashi, K. 2011. Protective memory B cell responses to influenza virus infection. 第40回日本免疫学会学術集会 (招待講演) (千葉、11月).
    - 15) 小野寺大志、相澤竜太郎、細野 朗、上野川修一、小林和夫、高橋宜聖. 2011. ウイルス特異的な記憶 B 細胞の形成、再活性化における Toll-like receptor の役割. 第40回日本免疫学会学術集会 (千葉、11月).
    - 16) Yingqian Li, Xiang Gao, Yoshimasa Takahashi, Ji-Yang Wang. 2011. The ELL-associated factor 2 negatively regulates the survival of germinal center B and memory B cells. 第40回日本免疫学会学術集会 (千葉、11月).
    - 17) FU Shuichi, SHIMIZU Takeyuki, OHNISHI Kazuo. 2011. B Lymphocyte Cadherin,



- BILL-cadherin/Cadherin-17, Contributes to the Maintenance of Antibody Affinity. 第40回日本免疫学会学術集会(千葉、11月).
- 18) MOCHIZUKI Michiko, FU Shuichi, KOBAYASHI Kazuo, OHNISHI Kazuo. 2011. Detection and Flow Cytometric Analysis of Hepatitis A Virus-specific B Cells. 第40回日本免疫学会学術集会(千葉、11月).
- 19) 佐藤法仁、阿戸 学、山崎利雄、黒田 誠、松村隆之、関塚剛史、中山真彰、本田尚子、土田耕三、小林和夫、大原直也. 2011. Analysis of the 16S rRNA gene of the streptomycin-dependent *Mycobacterium tuberculosis* strain 18b and phenotypic revertant strains. 第34回日本分子生物学会年会(横浜、12月).
- 20) 渋谷謙太郎、寺原和孝、石毛真行、光木裕也、横田(恒次)恭子. 2011. 麻疹ウイルス偽型化 HIV-1 抑制性 shRNA 発現レンチウイルスベクターのヒト化マウスにおける in vivo 評価. 第25回日本エイズ学会学術集会・総会(東京、12月).
- 21) 石毛真行、寺原和孝、渋谷謙太郎、光木裕也、池野翔太、小林和夫、岡田誠治、横田(恒次)恭子. 2011. R5 および X4 HIV-1 同時感染ヒト化マウスモデルによる感染早期のウイルス優位性の解析. 第25回日本エイズ学会学術集会・総会(東京、12月).
- 22) 阿戸 学、松村隆之、池辺忠義、大西 真、渡邊治雄、小林和夫. 2011. 劇症型レンサ球菌感染症分離株による好中球ネクロシス誘導分子機構. 感染症若手フォーラム(長崎、2月).
- 23) Okabe M., Ohara N., Fujiwara N., Naka T., Ato M., Kobayashi K. 2012. Interaction between mycobacterial surface translocation and entry into non-phagocytic cells. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).
- 24) 松本壮吉、岡 真優子、西内由紀子、仁木満美子、尾関百合子、立石善隆、小林和夫. 2012. Mycobacterial DNA-binding protein 1 (MDP1) に見いだされた ferritin-superfamily 蛋白質様活性. 日本細菌学会雑誌、67: 71. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).
- 25) 岡 真優子、合田亘人、曾我朋義、尾関百合子、小林和夫、松本壮吉、岩尾 洋. 2012. マクロファージのグルコース代謝と宿主内結核菌の増殖. 日本細菌学会雑誌、67: 104. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).
- 26) 立石善隆、小椋義俊、平山幸雄、尾関百合子、西内由紀子、仁木満美子、林 哲也、小林和夫、松本壮吉. 2012. 高病原性 *Mycobacterium intracellulare* 臨床分離株のドラフトゲノム解析. 日本細菌学会雑誌、67: 119. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).
- 27) 井上 学、岡 真優子、仁木満美子、尾関百合子、一瀬休生、小林和夫、松本壮吉. 2012. ケニアの学生における、結核菌タンパク質に対する免疫応答の解析. 日本細菌学会雑誌、67: 129. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).
- 28) 仁木満美子、仁木 誠、小林和夫、松本壮吉. 2012. 休眠時における抗酸菌の遺伝子発現. 日本細菌学会雑誌、67: 150. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).
- 29) 尾関百合子、平山幸雄、岡 真優子、立石善隆、瀧井猛将、山本三郎、小林和夫、松本壮吉. 2012. マウスモデルにおける BCG ワクチン効果の減衰に関する研究. 日本細菌学会雑誌、67: 158. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).
- 30) 仁木 誠、仁木満美子、小林和夫、松本壮吉. 2012. 定常期抗酸菌にみられるイソニアジド抵抗性の解析. 日本細菌学会雑誌、67: 150. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).
- 31) 岡部真裕子、大原直也、藤原永年、中 崇、阿戸学、小林和夫. 2012. 抗酸菌の表面移動と非食系細胞への取り込みの関連性. 日本細菌学会雑誌、67: 164. 第85回日本細菌学会総会(長崎、3月).